

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representation of
The original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **2000097908 A**

(43) Date of publication of application: 07 . 04 . 00

(51) Int. Cl

G01N 27/447(21) Application number: **10269298**(71) Applicant: **HITACHI LTD**

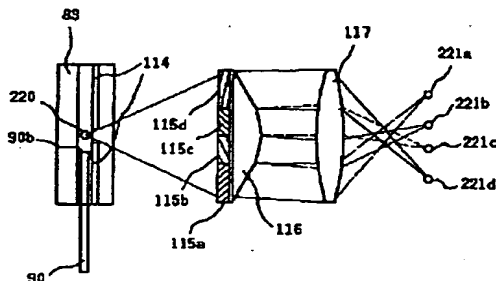
(22) Date of filing: 24 . 09 . 98

(72) Inventor: **TAKAHASHI SATOSHI****(54) ELECTROPHORESIS APPARATUS****(57) Abstract:**

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain an electrophoresis apparatus for measuring sample components highly accurately which can measure a plurality of migration paths and fluorescence intensities of a plurality of wavelength regions simultaneously, and shows a uniform sensitivity in detection by a positional difference of the plurality of migration paths.

SOLUTION: A plurality of migration paths 90 are almost simultaneously irradiated with a laser light. Parts other than a part 220 which emits fluorescence due to the irradiation are shielded by a slit 114 kept in tight contact with the part where the fluorescence is emitted. Only the fluorescence passing the slit is separated to each wavelength component through spectral elements 115, 116, whereby images are formed which are then detected. Accordingly, a fluorescence intensity is less lowered by a positional difference of the detected fluorescence images, a stray light is less generated and a target fluorescence component can be measured highly accurately.

COPYRIGHT: (C)2000,JPO



(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2000-97908

(P2000-97908A)

(43)公開日 平成12年4月7日(2000.4.7)

(51)Int.Cl.

G 0 1 N 27/47

識別記号

F I

G 0 1 N 27/26

テーマコード(参考)

3 1 5 K

3 2 5 A

3 2 5 E

審査請求 未請求 請求項の数15 OL (全 8 頁)

(21)出願番号

特願平10-269298

(22)出願日

平成10年9月24日(1998.9.24)

(71)出願人 000005108

株式会社日立製作所

東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地

(72)発明者 高橋 智

茨城県ひたちなか市大字市毛882番地 株

式会社日立製作所計測器事業部内

(74)代理人 100068504

弁理士 小川 勝男

(54)【発明の名称】電気泳動装置

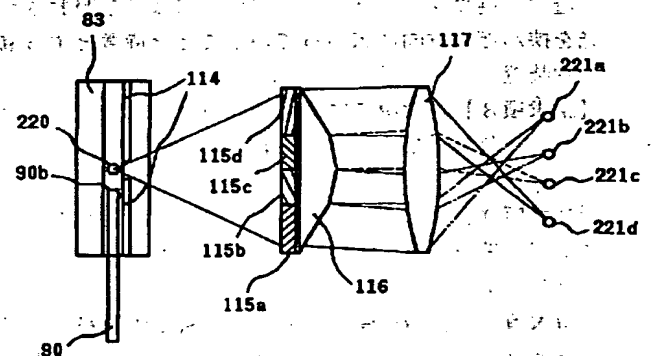
(57)【要約】

【課題】複数の泳動路を同時に、かつ複数の波長域の蛍光強度を同時に計測でき、複数の泳動路の位置の違いによる検出感度が均一で、試料成分を高精度に測定する電気泳動装置を提供する。

【解決手段】複数の泳動路(90)をほぼ同時にレーザ光照射し、照射によって蛍光が発する部分(220)以外の部分を、蛍光が発する部分に密着させたスリット114で遮蔽し、スリットを通過した蛍光のみを分光素子(115, 116)をとおして、各波長成分に分け、結像させて検出する。

【効果】本発明によれば、検出蛍光像の位置の違いによる蛍光強度の低下が少なく、また迷光が少なく、目的の蛍光成分を高精度に計測できる。

図 1



【特許請求の範囲】

【請求項1】分離媒体及び蛍光標識された試料が導入される泳動路と、前記分離媒体に電界を印加して前記試料を電気泳動させる電界印加手段と、前記電気泳動された試料に光を照射して蛍光を発生させる光源と、前記蛍光を少なくとも4つの波長に分光する分光手段と、前記分光された少なくとも4つの波長のそれぞれを検出する検出器とを有する電気泳動装置において、前記分光された光が前記検出器に結像するように配置された収光手段と、前記蛍光以外の光の少なくとも一部を遮光するよう10に前記蛍光の発生位置と前記検出器の間に配置された遮光手段を有することを特徴とする電気泳動装置。

【請求項2】請求項1において、前記検出器は単一構成され、この単一構成の検出器で前記少なくとも4つの波長のそれぞれを検出することを特徴とする電気泳動装置。

【請求項3】請求項1において、前記泳動路はキャピラリーで構成され、複数のキャピラリーを有し、前記複数のキャピラリーから発生する蛍光を前記検出器で検出することを特徴とする電気泳動装置。

【請求項4】請求項3において、前記検出器は2次的検出が可能であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項5】請求項4において、前記複数のキャピラリーに接続されるシースフローセルを有し、前記シースフローセルに光を照射し蛍光を発生させることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項6】請求項5において、前記遮光手段は、前記シースフローセルの一部の黒色部であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項7】請求項6において、前記シースフローセルは透明石英ガラスであり、前記黒色部は前記照射された光を挟んだ両方向に広がっていることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項8】請求項7において、前記シースフローセルは前記黒色部に対して前記照射された光と反対側の部分が透明であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項9】請求項3において、結像した複数の泳動路に基づく蛍光像をほぼ同時に検出する手段を有することを特徴とする電気泳動装置。

【請求項10】請求項1において、前記泳動路の一部がキャピラリー、またはキャピラリーの出口近傍の実質的に試料が存在する空間であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項11】請求項1において、照射される光はレーザー光であり、前記遮光手段が、前記レーザー光が照射される部分の形状とほぼ同等の開口を有するスリットであることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項12】請求項1において、前記分光手段は像分割プリズムであることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項13】請求項1において、前記分光手段は回折50

格子であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項14】請求項12あるいは13において、前記分光された光が通過する分光フィルタを有することを特徴とする電気泳動装置。

【請求項15】請求項14において、前記蛍光の発生する位置と前記分光手段の間に第1のレンズを配置し、前記分光フィルタと前記検出器の間に、第2のレンズを配置することを特徴とする電気泳動装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は電気泳動装置に関し、特に、DNAの塩基配列の解析に好適な電気泳動装置に関する。

【0002】

【従来の技術】DNAの塩基配列を分析するために、一般に、電気泳動が用いられる。すなわち、蛍光標識した試料（DNA）を調整し、これを分離媒体に注入する。分離媒体に電界を印加して分子量分離させつつ電気泳動させ、一定距離泳動させた位置に光を照射する。4種の蛍光体を使用して、各々の蛍光体の強度を測定すると、DNAの塩基配列を分析ができる。

【0003】分離媒体としては、ゲル状物質を用い、2枚のガラス板の間にアクリルアミド（平板ゲル）として形成されることが多い。また、高速高分離のため、大きな電界が印加できるように、石英毛细管（キャピラリー）の内にゲルを重合させることも多くなされている。この場合、キャピラリー下端近傍にレーザー照射し蛍光検出するのである（オンカラム計測）。

【0004】ここで、試料からの蛍光を得るため、蛍光が発生する部分の像を集光レンズでコリメートし、像分割プリズム（あるいは、回折格子）等で光を分割し、それぞれを分光フィルタにより目的の波長成分を取り出し、結像レンズにより検出器に結像させている（例えば、特開平6-138037号公報に記載）。

【0005】このような技術は特にキャピラリー複数本をアレイ化して多くの試料を同時に分析するキャピラリーアレイゲル電気泳動装置で有効である。なお、キャピラリーアレイゲル電気泳動装置には、キャピラリーアレイスキャン方式で、複数のキャピラリーアレイを順次移動させ、キャピラリーを1本ずつ順番にレーザー照射し、オンカラム蛍光計測するものがある。また、キャピラリーアレイシースフロー方式もある。特に、後のものにおいて、前述の技術は有効である。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】上記のように、蛍光が発生する部分の像を検出器に結像させる場合には、中心軸から離れるに従って、集光効率及び結像効率が低下し、蛍光強度が小さくなってしまふ。特に、像分割プリズム及び分光フィルタの前後にそれぞれ集光レンズと結像レンズを置いた場合には、2つのレンズの中心を結ぶ

線上から離れるに従って、集光効率及び結像効率が低下して蛍光強度が小さくなってしまいます。一方、蛍光を像として検出するので、蛍光発生以外の要因、例えば、電気泳動路（キャピラリー）、及びその被覆物、あるいは、ゴミの像も検出してしまいます。このように、蛍光強度が小さくなった部分に、さらに、ゴミ等の像が重畳すると検出精度が実用に耐えられなくなってしまいます。特に、この現象は、分光方向にキャピラリーが並んでいる場合に、目的の蛍光像以外の像が重なってしまい、問題が大きい。

【0007】本発明の目的は、検出精度の向上が可能な電気泳動装置を提供することにある。

【0008】

【課題を解決するための手段】上記目的を達成するために、本発明では、分離媒体及び蛍光標識された試料が導入される泳動路と、分離媒体に電界を印加して試料を電気泳動させる電界印加手段と、電気泳動された試料に光を照射して蛍光を発生させる光源と、蛍光を少なくとも4つの波長に分光する分光手段と、分光された少なくとも4つの波長のそれぞれを検出する検出器と、分光された光が検出器に結像するように配置された収光手段と、蛍光以外の光の少なくとも一部を遮光するように蛍光の発生位置と検出器の間に配置された遮光手段を有するよう

に構成した。

【0009】好ましくは、複数の泳動路をほぼ同時に照射し、照射によって蛍光が発する部分以外の部分を光学的に実質的に遮蔽し、この遮蔽を泳動路近傍つまり発光位置近傍に配置することで達成される。蛍光は、遮蔽されなかった部分を通り抜け、分光・結像される。このようにすれば、キャピラリー被覆をはがしてガラス部分を露出させて、この部分を通過する試料成分を蛍光検出する場合でも、キャピラリーアレイシースフロー方式のように泳動分離した試料成分をキャピラリーの外のシースフロー部で蛍光検出する場合等、種々の系で実現できる。

【0010】好ましくは、遮蔽には、レーザ光が照射される部分の形状とほぼ同等の開口を有するスリットを用い、これをレーザ光照射部分とスリット開口部を合わせるようにキャピラリーに接触させたり、シースフロー部のレーザ光照射部とスリット開口部を合わせるようにシースフローセル内部に張り付ける。これにより、目的の蛍光以外の光が分光手段や検出器に混入されることがなくなり、ノイズが低減できる。

【0011】さらに、蛍光像の分光には、回折格子や、蛍光を分割する手段と、分割された蛍光を各々異なる波長域の光成分を有するように、分割手段の前部または後部に各々配置した分光フィルタ等が使用できる。さらに、蛍光像検出に2次元検出器等を用いることで、複数の泳動路に基づく蛍光像をほぼ同時に検出できる。

【0012】

【発明の実施の形態】以下、本発明の実施例を図面を用

いて説明する。

【0013】【実施例1】実施例1として、ゲルを充填した複数のキャピラリーつまりキャピラリーアレイを使い、シースフローセル内で計測する方式で、DNAの塩基配列を決定することのできる電気泳動装置及び方法について説明する。

【0014】DNAシーケンシング用の試料（蛍光標識DNA断片）を調製する。1本の泳動路（ゲルキャピラリー）で4つの塩基種を識別するために、A、C、G、T断片毎に異なる蛍光体を標識したプライマーを使用する。A断片には、蛍光極大波長が約550nmの蛍光体を標識したプライマー（プライマーAと略記）を、同様にC、G、T断片には、蛍光極大波長が各々約520、575、605nmの蛍光体を標識したプライマー（各々プライマーC、プライマーG、プライマーTと略記）を使用する。これらを使用し、周知のサンガー（Sanger）らのジデオキシ法によりDNAポリメラーゼ反応を各々行い、蛍光標識DNA断片）を調製する。これらの断片群は最終的に単一サンプルチューブにいて混合し、エタノール沈殿処理の後、脱イオン化ホルムアミド（微量のトリス緩衝液、またはEDTA液を含む）に溶解させ、試料液とした。ゲルキャピラリーへの注入前には、90℃で2分割加熱して熱変性させ、その後すぐに氷冷し、注入操作に使用する。なお、蛍光標識をプライマーにではなく、ターミネータにして試料を調製しても同様である。

【0015】装置について説明する。図1は蛍光検出・色分離部の原理構成図である。図2はキャピラリーアレイ及び蛍光測定部となるシースフローセル部の構成・配置図、図3はキャピラリーアレイを使った電気泳動装置の構成図である。

【0016】内部にゲルを充填したキャピラリーを48本用いて、一端を一直線状に揃えて並べたキャピラリーアレイを作製する。ここで使用するキャピラリーは種々の内外径のものが使用できるが、例えば、内径0.1mm、外径0.2mm、長さ約20cmのものを使用し、周知の方法でその内部にアクリルアミドゲルを充填して使用する。ゲル濃度は4%T（（アクリルアミド+ビスアクリルアミド）の全溶液量に対する比率）、5%C（ビスアクリルアミドの（アクリルアミド+ビスアクリルアミド）に対する比率）とする。なお、キャピラリーはその表面に折り曲げ時の破損を防ぐなどの目的でポリイミドコーティングがされているが、本例では、ポリイミドにカーボンを混入させるなどしてコーティングを黒色としたものを使用する。

【0017】キャピラリーアレイ及びシースフローセル部について、わかりやすくするために8本のキャピラリーの場合を図2に示す。また、液体をシールするためのOリング等の部品等は省略している。キャピラリー保持具91及び92はそれぞれ2.25mm間隔及び0.4mm間

隔の取付溝を形成したもので、キャピラリー同士の間隔を揃え、キャピラリーアレイの取り付けなどを容易にするために使う。まず48本のキャピラリー90を同一平面上に並べ、キャピラリー保持具91及び92に固定して、一端が2.25mm間隔、他端が0.4mm間隔になるようにし、それらの端を切断して揃える。2.25mm間隔に固定されたキャピラリー端90aは試料注入側の端であり、反対側の90bは泳動分離された試料断片が排出されるキャピラリー端である。90bは91とともに、シースフローセル部に取り付けられる。なお、91側には48本のキャピラリー90のほかその外側にそれぞれ6本ずつダミーガラス棒93をキャピラリー90と同じ間隔で取り付けた。このダミーガラス棒93はキャピラリー90の端90bの個々の境をすべて同じにするために設けたもので、キャピラリー90とほぼ同等の外径を持つものであればよい。本例ではキャピラリー90と同じキャピラリーとし、その内部を埋めたものを使用した。

【0018】ダミーガラス棒93の数はシースフローセルの流路の断面の幅に依存し、幅全体にキャピラリーが均一に存在するように調整する。このようなダミーガラス棒93により、端90bの個々のシースフローの環境がすべて同じになり、キャピラリー90の1本目から48本目まで安定した均一の流れを形成できることになる。

【0019】シースフローセル部は、流路の断面が0.23mm×2.42mmの石英ガラス製のシースフローセル83、その上下をシースフローセル固定用の保持具82、84で固定したものである。保持具82、84はその内部にシース用の液体（シース液）が流れるような空間を有する。シース液にはアクリルアミドゲルを調製したものと同等の緩衝液とする。シース液はシース液容器80からチューブ81を介し、保持具82、シースフローセル83、保持具84を通り、チューブ85を介して廃液容器86に流れ込むという流路を形成する。なお、シース液容器80を廃液容器86より高く配置することで、流路をシース液がサイホンの原理でゆっくりと安定に流れ、キャピラリー90の端90bの近傍にシースフローが形成されることになる。なお、上記キャピラリー90のシースフローセル部への取り付けは、キャピラリー端90bの乾燥によるダメージを可能な限り低減するため、シースフローセル内部をシース液で満たした後に行う。同様にキャピラリー端90aも乾燥によるダメージを可能な限り低減するため、切断した後は緩衝液中に保持するようにする。

【0020】図3は、電気泳動装置の構成図である。キャピラリー保持具92、キャピラリー90、キャピラリー保持具91、シースフローセル83等は平面内に配置されており、これをシースフローセル83側が上になるように垂直に立てて固定されて、シースフローセル83

内をシース液は下から上方に流れる。キャピラリー90の下部には、1列に並んだ端90aと同じ間隔に形成された48穴のウエルを有する試料容器100（各ウエルには測定する試料液が入る）、及び緩衝液の入る電極槽101、洗浄液の入る洗浄液槽102が並び、移動台103により上下、左右（試料容器100、及び電極槽101、洗浄液槽102の並び方向）に移動でき、キャピラリー端90aを目的によって試料液、緩衝液、洗浄液に挿入させることができる。

【0021】試料容器100の48穴のウエル内には測定用の試料液をピペットで注入する。電極槽101には緩衝液を、洗浄液槽102には洗浄液として蒸留水を注入する。まず、移動台103により、キャピラリー端90aを洗浄液槽102内に浸し先端に付着している可能性のあるゴミや緩衝液等を洗浄する。次いで、移動台103により試料容器100内の試料液をキャピラリー端90aに接触させ、試料液側に25V/cmの電界強度となる電圧-500V（負極側）、シースフローセル83内のシース液側を0V（正極側）にして電圧を印加し、キャピラリー内に試料を注入する。なお、図では正極、負極の電極及び高電圧電源を省略している。負極の電極は、試料容器100の48穴のウエル毎に白金電極を設けたり等することで容易に実現できる。正極の電極は、シースフロー固定用の保持具84をステンレスで作製して保持具84そのものを電極としたり、シースフローセル83内の上部に白金電極を設けたり、また廃液容器86内に白金電極を設けたりできる。

【0022】試料注入後、移動台103を動作させ、キャピラリー端90aを電極槽101に移して緩衝液中に挿入する。電極槽内の緩衝液中には白金電極が保持されており、これに電圧を印加する。印加する電圧は最初の5分間を25V/cmの電界強度となる電圧-500Vで、次に50V/cmの電界強度となる電圧-1000V、次いで70V/cmの電界強度となる電圧-1400Vと段階的に大きくする。電気泳動の結果、DNA断片が分子量毎に分離してキャピラリー端90bからシースフローセル中に溶出する。この溶出される試料断片をシースフロー状態で蛍光計測する。シースフローにすることで、各キャピラリー端90bから溶出する試料断片同士が混じらないように流れることになる。この構成により、48試料の同時注入と同時電気泳動・解析が実現できる。また、試料の注入は、予め、試料容器100に試料液を入れておけば、従来の平板ゲルの場合のようにさらにピペティングにより1試料ずつ手操作で行う必要がなくなり、操作性を向上させることができる。

【0023】蛍光測定法について説明する。試料を励起するための光源として、波長514.5nmのアルゴンレーザ装置108を使用する。アルゴンレーザ光112をミラー110で反射させ、シースフローセル83に焦点距離が約70mmのレンズ（図示せず）で絞って照射した。

生じる蛍光は、スリット 114 (図 3 では図示せず)、4 種の分光フィルタ 115 a ~ 115 d、像分割プリズム 116、結像レンズ 117 により、2 次元検出器 118 に結像させ、泳動によって分離される各試料の DNA 断片からの蛍光強度の時間波形をデータ処理ユニット 119 で解析する構成である。

【0024】蛍光像の検出について、図 1 により説明する。シースフローセル 83 の流路の壁の結像レンズ 117 側に、レーザ光路に沿うようにスリット 114 を配置する。スリット 114 はレーザ光で励起された蛍光体からの蛍光が結像レンズ 117 に到達し、セル内のキャピラリー端 90 b によるレーザ法の散乱等の目的以外の光が結像レンズ 117 に到達しないようにするものである。本例では 0.2 mm × 2.1 mm の開口を有する厚さ 0.15 mm の黒色板状のスリットを使用し、レーザ光路上にある蛍光発光点 220 と蛍光を集光する結像レンズ 117 との光軸にスリットの開口部の中心がくるようにする。これにより、蛍光発光点 220 から発する蛍光のみが、スリット 114 を通過し、像分割プリズム 116 により 4 つに分割され、結像レンズ 117 により、それぞれ結像 (221 a, 221 b) される。この際、4 種の分光フィルタ 115 a ~ 115 d を像分割プリズムの前面 (または後面) に配置することで、それぞれ分割された光が別々の波長成分となるようにできる。以上は、1 つの蛍光発光点 220 について説明したが、すべての発光点についても同様であり、しかもこの分割が同時に行われる。つまり、たとえばレーザ光走査や検出器の機械走査をする場合のように時間分割されることはないの

で、蛍光強度の測定間隔が長くなることなく、高速に計測できるようになる。リアルタイムで連続的に計測することも可能である。

【0025】本例では、キャピラリーアレイを泳動するすべての試料を、同時に、各々 4 分割して高精度に計測できる。そこで 4 種の分光フィルタ 115 a, 115 d をプライマー A、プライマー C、プライマー G、プライマー T の蛍光を透過するように調整することにより、プライマー A、プライマー C、プライマー G、プライマー T を識別して計測することができるようになる。ただし、実際は、各蛍光標識プライマーの蛍光はブロードであり、4 種の蛍光標識プライマーの蛍光が重なり合っている。そのため、その重なりを補正することで、プライマー T、プライマー G、プライマー A、プライマー C 単独の蛍光強度の時間波形が得られる。これはそれぞれ T、G、A、C 断片の泳動スペクトルとなり、この波形から通常の方法により、DNA の塩基配列が決定できる。

【0026】なお、本実施例での泳動条件 (泳動電圧、時間、ゲル濃度)、キャピラリーの数、長さ、太さ、キャピラリーアレイの上下端の間隔、試料容器の形状 (ウェルの数、間隔、材質を含む) 等は種々変更可能であ

る。また、実施例ではキャピラリー端 90 a は 1 列であるが、端 90 a の部分近傍のみを 2 列又はそれ以上にすることも可能である。その場合、試料容器の形状もそれに合わせて変更する必要がある。

【0027】また、DNA 塩基配列のみでなく、DNA の制限酵素断片の多型性等の DNA 断片一般の検出・診断に使用することができる。レーザ照射法も、実施例に限定されず、レーザ光を走査させたり、レーザ光をキャピラリーアレイの幅以上に拡げて照射する方法も可能である。

【0028】なお、図 1 で、スリット 114 を設けない場合は、キャピラリー 90 (及び端 90 b) の像も結像されてしまう。しかも、キャピラリー端 90 b と蛍光発光点 220 の位置が異なるため、4 つに分割されることで、蛍光発光点の像とキャピラリーの像が重なってしまうという問題が生じるが、本例のようにスリットを設けることで、目的の蛍光のみを検出することができる精度が向上できる。

【0029】また、本例では、レンズが 1 つであり、通常、キャピラリーの位置による蛍光集光効率のちがいが少なく、また、レンズの F 値を大きくすればすべての試料位置で蛍光強度を大きくすることができ、精度を向上させることができる。

【0030】なお、スリット 114 のかわりに、黒色ガラスと透明の石英ガラスとでシースフローセルを作成することで、セル自体に同様の機能を持たせることもできる。また、本例ではシースフローセル内で計測する方式について説明したが、キャピラリーの一部の被覆を除去しこの部分にレーザ光を照射し、その部分での蛍光を測定する様な場合でも同様に実施可能である。

【0031】〔実施例 2〕実施例 2 を説明する。ゲルを充填したキャピラリーアレイを使った別の構成の蛍光機構について説明する。図 4 は蛍光検出色分離部の原理構成図である。

【0032】本実施例では、キャピラリーの一部の被覆を除去しこの部分にレーザ光を照射し、その部分での蛍光を測定する系で説明する。実施例 1 と同様に、周知の方法でその内部にアクリルアミドゲルを充填したキャピラリーを用意する。ただし、最終的にキャピラリーの試料注入端から約 1.5 cm の位置に蛍光測定用の窓を予め開けておく。窓はキャピラリーのポリイミドコーティングを除去して作成する。蛍光測定用の窓の位置をそろえて、複数のキャピラリーを平面状に並べておく。複数のキャピラリーのうちの片側から、蛍光測定用の窓にレーザ光を照射し、複数のキャピラリーの窓を通過させて、すべてのキャピラリー内を泳動する試料を蛍光計測できるようにする。

【0033】図 4 を説明する。キャピラリー 300 は紙面に対して垂直方向に並べてある。蛍光測定用の窓 301 も紙面に対して垂直方向に連なっている。レーザ光は

窓301の中心を通して、紙面に対して垂直方向に照射する。これにより、適当なキャピラリー本数であれば、すべてのキャピラリーをレーザ光で同時に照射することができる。複数のキャピラリーの窓の部分から発する蛍光のみが通過するようにスリット302を、キャピラリーの窓に沿って、キャピラリーに密着して配置する。通過する蛍光はミラー304により曲げられ、それ自身に集光作用のある凹面の入射面を有する凹面回折格子305に入射する。蛍光は凹面回折格子305により、分光され、かつ集光されて2次元検出器306に結像される。2次元検出器306上に結像された像は、紙面に対して垂直方向に複数のキャピラリー内の試料成分から発せられる蛍光像の各々の像、紙面に対して平行方向に任意のキャピラリー内の試料成分から発せられる蛍光が波長方向に分光された像となり、これらから複数のキャピラリーに対して同時に、特定の波長成分の蛍光強度を同時に計測することができる。DNAの塩基配列解析等のデータ処理については、実施例1と同様に行うことができる。

【0034】本例では、結像素子が分光素子を兼ねている凹面回折格子の1つのみであり、実施例1と同様の効果が得られる。

【0035】また、本例でも、スリットがない場合、目的の蛍光以外の散乱などの光が結像され、しかもそれぞれの発光位置が異なるため、2次元検出器上での、それぞれ別々に分光された像の波長位置がずれ、目的の波長の蛍光成分を精度よく検出できなくなるが、スリットを配置することで、実施例1と同様に、目的の波長の蛍光成分を精度よく検出することができる。

【0036】また、本例での蛍光検出・色分離部は、実施例1に記載した泳動装置に適用でき、シースフローセル内で計測する方式でも同様の効果がある。

【0037】〔実施例3～5〕以上、実施例3～5を説明する。なお、実施例3～5は、シースフローセル83の断面構造が異なり、他の部分は同様であるので、その部分のみ説明する。集光レンズ側からレーザ光照射部からの蛍光等を集光することができるが、キャピラリーによる散乱光を集光しないようにするため、キャピラリーがある部分のフローセルの部分に光を通さない黒色石英ガラスを使用し、フローセルを通常の透明石英ガラスと、白色石英ガラスとを合わせた遮光部付フローセルの形状とする。

【0038】この際、蛍光等の集光効率が落ちないように、図5、図6及び図7のようにレンズ側に向かって、透明石英部が広がるようにする。

【0039】このときの角度はレンズの集光の立体角よりも大きければよく、45度以上であれば通常の測定に支障がない。

【0040】また、流路の部分の透明石英ガラスと黒色*

*石英ガラスとの境界は通常キャピラリーとレーザ光照射部との中間になるように配置する。これにより、キャピラリーのレーザ光側の端面での散乱光は黒色石英で遮蔽され、蛍光測定時のノイズを防ぐことができる。

【0041】図5では、キャピラリーのある下部のみに遮蔽用の黒色石英ガラスを配置した（実施例3）。

【0042】図6では、図5に加えてレーザ光の上部にも遮蔽用の黒色石英ガラスを配置し、レーザ光軸を中心とするスリット状にした。これにより、レーザ光照射部のみからの蛍光を精度よく集光することができる（実施例4）。

【0043】図7は、図6の変形である。レーザ光の散乱がレーザ光照射部近傍のみの場合、セルの全体に渡って黒色石英ガラスを配置する必要はなく、図7のようにレーザ光照射部の近傍のみに黒色石英ガラスを配置してもよい（実施例5）。

【0044】

【発明の効果】以上説明したように、本発明によれば、検出蛍光像の位置の違いによる蛍光強度低下の少ない、また迷光の少ない高精度な電気泳動装置を実現することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】実施例1の蛍光検出・色分離部の原理構成図である。

【図2】実施例1のキャピラリーアレイ及び蛍光測定部となるシースフローセル部の構成・配置図である。

【図3】実施例1の電気泳動装置の構成図である。

【図4】実施例2の蛍光検出・色分離部の原理構成図である。

【図5】実施例3のシースフローセルの断面図である。

【図6】実施例4のシースフローセルの断面図である。

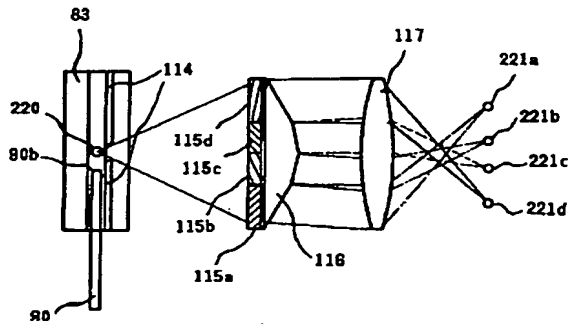
【図7】実施例5のシースフローセルの断面図である。

【符号の説明】

1, 21, 90, 300…キャピラリー、1a, 1b, 21a, 21b, 90a, 90b…キャピラリー端、2, 22…蛍光測定用の窓、3, 23, 100…試料容器、4, 24…ウエル、5, 25, 101…電極槽、6, 7, 26, 27, 91, 92…キャピラリー保持具、80…シース液容器、81, 85…チューブ、82, 84…シースフローセル固定用の保持具、83…シースフローセル、86…廃液容器、93…ダミーガラス棒、102…洗浄液槽、103…移動台、108…アルゴンレーザ装置、110, 304…ミラー、112…アルゴンレーザ光、114, 302…スリット、115a～115d…分光フィルタ、116…像分割プリズム、117…結像レンズ、118, 306…2次元検出器、119…データ処理ユニット、220…蛍光発光点、221a, 221b…結像、301…窓、303…蛍光、305…凹面回折格子。

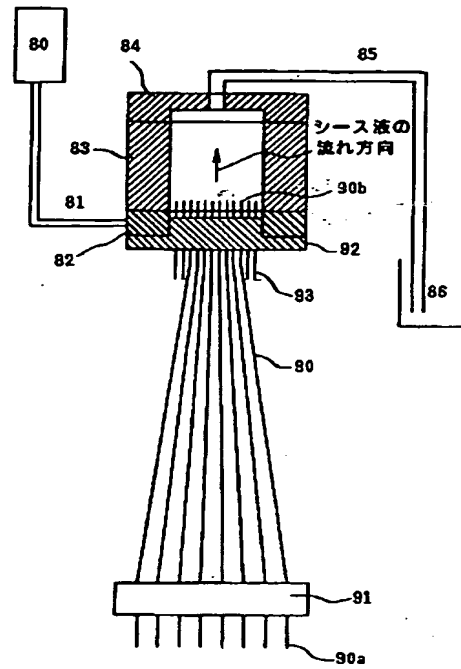
【図1】

図 1



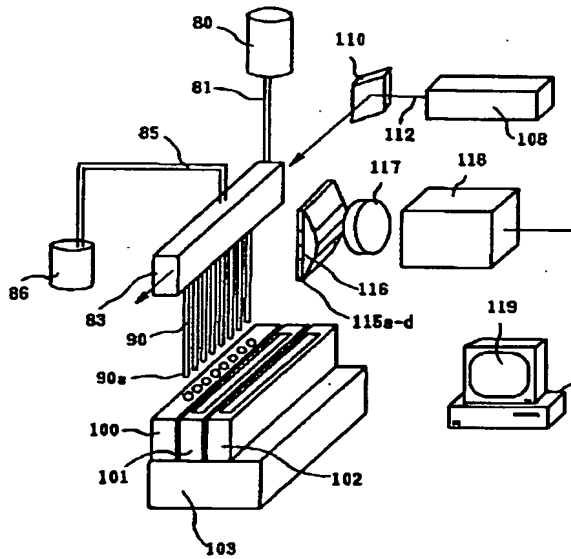
【図2】

図 2



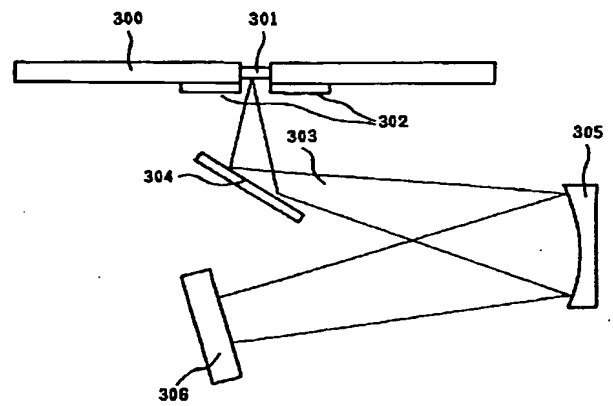
【図3】

図 3



【図4】

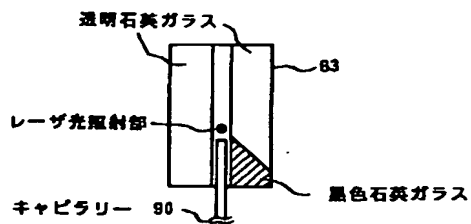
図 4



【図5】

図 5

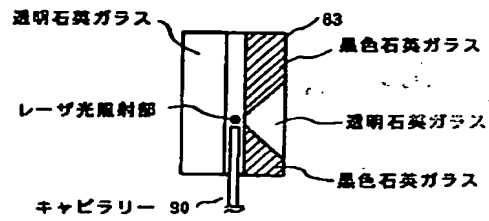
(透光部付フローセル(例1)の断面図)
アルゴンレーザー108の照射方向



【図6】

図 6

(通光部付フローセル(例2)の断面図)
(アルゴンレーザー108の照射方向)



【図7】

図 7

(通光部付フローセル(例3)の断面図)
(アルゴンレーザー108の照射方向)

